NEDERLANDSCHE PLANTENZIEKTENKUNDIGE (PHYTOPATHOLOGISCHE VEREENIGING

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

ONDER REDACTIE VAN
Ir N. VAN POETEREN, PROF. DR W. K. J. ROEPKE
EN PROF. DR JOHA WESTERDIJK

REDACTIE-ADRES: Ir N. VAN POETEREN, WAGENINGEN
DRUKKERS-UITGEVERS: H. VEENMAN & ZONEN, WAGENINGEN

51e Jaargang **1e aflevering** **1945**

IMP. INST. ENT. LIBRARY 19 DEC 1945 Eu. 86 SEPARATE

DE ASCOCHYTA-VLEKKENZIEKTE VAN DE BOON (PHASEOLUS)

(*With a summary*)

DOOR

J. SNEEP

1. OVERZICHT OVER DE LITERATUUR

SACCARDO beschreef in 1878, in Michelia I, *Ascochyta phaseolorum*. Deze beschrijving komt ook voor in het derde deel van zijn Sylloge Fungorum.

BOLTSHAUSER (1891) vond in zijn tuin, op de bladeren van *Phaseolus vulgaris*, rondachtige vlekken met verscheidene, donkerbruine, concentrische ringen. De aantasting was soms zoo hevig, dat het geheele blad in den nazomer met zulke vlekken bedekt was, waardoor het vroegtijdig stierf. Hij stuurde de schimmel, die deze ziekte veroorzaakte, naar SACCARDO, die haar als *Ascochyta Boltshauseri* beschreef (1).

VAN POETEREN (1918) beschrijft het ziektebeeld van *Ascochyta Boltshauseri* op bladeren en peulen van *Phaseolus vulgaris* en vermeldt, dat de pycniden in concentrische ringen gerangschikt staan. De ziekte zou tot 1918 nog maar één keer in ons land zijn waargenomen. Terecht neemt VAN POETEREN echter aan, dat men de door *A. Boltshauseri* veroorzaakte vlekken vaak voor die van *Colletotrichum Lindemuthianum* zal aangezien hebben.

PETRAK (1921) beschrijft de aantasting van eenige *Phaseolus*-soorten door *A. Boltshauseri*. Hierbij worden alleen de bladeren en de stengels genoemd. Hij constateerde, dat stokboonen, en vooral pronkboonen, minder aangetast worden dan stamboonen.

HUBBELING (ter perse) geeft de eerste uitvoerige beschrijving van het ziektebeeld van de twee Ascochytasoorten op de verschillende deelen van de boonenplant en bespreekt tevens de levenswijze van de schimmels en hun mogelijke bestrijding.

2. BESCHRIJVING DER ZIEKTE [1])

De Ascochyta-vlekkenziekte van de boon wordt veroorzaakt door *Ascochyta phaseolorum* SACC. en door *Ascochyta Boltshauseri* SACC. Tusschen het ziektebeeld, dat deze twee fungi teweeg brengen, bestaat geen wezenlijk verschil, en ze zijn slechts microscopisch van elkaar te onderscheiden door de verschillende afmetingen van hun pycniden en sporen.

[1]) Veel is hier ontleend aan Ir N. Hubbeling: „Overzicht der belangrijkste Boonenziekten" (ter perse).

De kiemplanten, welke door aangetaste zaden voortgebracht worden, vertoonen op het hypocotyl een bruine streep, die heel fijn geladderd is. Deze laddering is een gevolg van den groei van het hypocotyl. De ontwikkeling van de aangetaste planten blijft meestal eenigszins achter bij die van gezonde.

Tegen den tijd, dat de bladeren zich ontplooien, is bijna de geheele stengel aan de oppervlakte donkerbruin gekleurd. Als de weersomstandigheden voor de ontwikkeling van de schimmels gunstig zijn (koel en vochtig weer), dan breiden ze zich vanaf den stengel en de zaadlobben, waarop al betrekkelijk gauw pycniden gevormd worden, op de zich ontplooiende bladeren uit. De aantasting van het blad begint met een groot aantal kleine, bruine stippen, welke van lieverlede grooter worden, zoodat bruine, ronde vlekken ontstaan. Vaak kan men hierin concentrische ringen waarnemen. In de vlekken bevinden zich, veelal op de juist genoemde ringen, de donkerbruine pycniden, welke bolvormig zijn en aan hun top een ronde opening hebben. Worden de pycniden vochtig, dan worden de sporen door deze opening naar buiten geperst. Men ziet dan de sporen in wit-rose klompjes te voorschijn komen. Door den regen spatten deze klompjes uiteen en de sporen worden zoo over alle deelen van de plant verspreid. Ook kunnen ze op deze manier op naburige planten terechtkomen. Bij vochtig weer kiemen de sporen en de kiemhyphe dringt dan de plant binnen. Zoo ontstaat een groot aantal bruine vlekjes, die later in elkaar overgaan, waardoor een egaal bruin gekleurd oppervlak kan ontstaan. Dit is vaak heel duidelijk op peulen te zien. De regen spoelt de sporen naar beneden toe, en daardoor komt het veel voor, dat het bovendeel van de peul slechts verspreide vlekjes vertoont, terwijl op het ondereinde zooveel van die vlekjes voorkomen, dat ze een dicht aaneengesloten veld vormen.

Ook op de peulen vindt men soms vlekken, welke opgebouwd zijn uit concentrische ringen, waarop de pycniden gerangschikt staan. Dit komt echter niet zoo dikwijls en zoo duidelijk voor als op de bladeren.

De schimmels tasten niet alleen het blad, de peulen en de stengels aan, maar kunnen ook den stengelvoet en de wortels aantasten. Bij steriel gekweekte planten werd dit herhaaldelijk geconstateerd.

Als de aantasting van het blad hevig is, gaan de nerven ook vaak bruin verkleuren. Na verloop van eenigen tijd verschrompelen ze dan. Hierdoor kunnen ze hun functie niet meer vervullen en het geheele blad sterft dientengevolge af. Zoo kan het voorkomen, dat in den nazomer (de schimmels breiden zich dan bij koel en vochtig weer sterk uit) een groot deel van de bladeren te gronde gaat, waardoor alleen de donkerbruin gekleurde stengels met de peulen, die eveneens overdekt zijn met bruine vlekjes, blijven staan.

Als bepaalde deelen van de plant gaan afsterven, dan groeien de beide schimmels intra-cellulair door het doode weefsel heen en vormen aan het oppervlak ervan overvloedig pycniden. De schimmels breiden zich in oude en doode weefsels aanzienlijk sneller uit dan in jonge. Vandaar dat ze bij nat weer nog zooveel schade kunnen doen als de boonen al op de ruiters of aan de tollen staan. Ze groeien dan zeer snel door den peulwand heen en dringen vervolgens het zaad binnen. Dit gaat dan al spoedig donkere vlekken met een groen-grijzen rand vertoonen.

Het verschil in symptomen tusschen de Vlekkenziekte, die veroorzaakt wordt door *Colletotrichum Lindemuthianum* en de Ascochyta-vlekkenziekten, berust hoofdzakelijk op de volgende punten:

1. De vlekken van Colletotrichum op de verschillende plantendeelen zijn altijd ingezonken en omgeven door een ietwat verhoogden, geelachtigen tot oranje-

kleurigen rand, die aan de vlekken een scherpe grens geeft. De vlekken van Ascochyta zijn daarentegen nóóit ingezonken en de grens is hier niet zoo scherp.
2. Op het zaad zijn de vlekken van Colletotrichum omgeven door een lichtbruinen tot oranjekleurigen rand. De vlekken van Ascochyta zijn hier door een groengrijzen rand omgeven.

Microscopisch zijn gemakkelijk de volgende verschillen waar te nemen:
1. Colletotrichum heeft ééncellige sporen. De beide Ascochyta's tweecellige (*A. Boltshauseri* zelfs vaak drie- en viercellige).
2. Colletotrichum vormt als vruchtlichamen acervuli, de beide Ascochyta's pycniden.

3. HET BINNENDRINGEN IN DE PLANT

Teneinde na te gaan op welke wijze de schimmels de plant binnendringen, werden op eenige bladschijfjes, die in een Petrischaal op water dreven, druppels van een sporensuspensie van de beide Ascochyta spp. gelegd. Na twee dagen werden de bladschijfjes gefixeerd in alcohol, waardoor tevens de groene kleur eruit getrokken werd. Na de fixatie werden de preparaten gekleurd met katoenblauw en daarna onder het microscoop bekeken. Hierbij bleek, dat de kiemhyphe *niet* door een huidmondje naar binnendringt, maar in staat is de cuticula te doorboren. Is dit laatste gebeurd, dan blijft de hyphe nog eenigen tijd subcuticulair groeien, om vervolgens intercellulair in het weefsel door te dringen. Dit komt geheel overeen met wat WEHLBURG (12) vond bij *Ascochyta pisi*, *A. pinodella* en *mycosphaerella pinodes*, drie parasieten van de erwt. Deze auteur vermeldt ook, dat laatstgenoemde schimmels intercellulair in het weefsel dringen, terwijl ze de middenlamel oplossen, waardoor de cellen geïsoleerd en vernield worden. Dit laatste is zeer waarschijnlijk ook bij *Ascochyta phaseolorum* en *A. Boltshauseri* het geval.

HUBBELING (5) constateerde, dat het mycelium in afgestorven weefsels intracellulair groeit.

Naar hun levenswijze kunnen we *Ascochyta phaseolorum* en *A. Boltshauseri* rangschikken onder de biotrooph-perthotrophe parasieten. Ze kunnen ook saprophytisch leven in afgestorven weefsels.

4. DE SCHADE

Er werd reeds op gewezen, dat de aangetaste kiemplanten in hun ontwikkeling bij gezonde achterblijven en dat, vooral ook wegens het afsterven van nerven, het assimileerende oppervlak verminderd kan worden; geheele gedeelten van het blad worden dan van de rest van de plant geïsoleerd. In erge gevallen kan het afsterven der nerven zelfs leiden tot een algeheele ontbladering. Dit heeft een vermindering van de opbrengst tengevolge in kwantitatief opzicht. Vermoedelijk is de opbrengstvermindering in kwalitatief opzicht echter belangrijker: de bruine vlekken op den peulwand beteekenen bij sla- en snijboonen een aanzienlijke vermindering van de marktwaarde. Voor de teelt om het zaad is de Ascochytavlekkenziekte bijzonder schadelijk, daar alle boonen, waar de vlekken op voorkomen, als uitschot uitgelezen moeten worden. Bij witte boonen kan dit vaak een zeer belangrijk deel van de opbrengst bedragen.

5. EENIGE BELANGRIJKE TEMPERATUREN

Om de optimale temperatuur van de beide schimmels te bepalen, werden ze op schalen met kersenagar (op welk substraat ze zich zeer goed ontwikkelen) ge-

ent. Dit enten geschiedde met precies even groote, gelijkwaardige stukjes, die uit een 10 dagen oude cultuur geponst waren. Na het enten werden de schalen verdeeld over drie thermostaten met een gemiddelde temperatuur van resp. 17, 22 en 24 °C. Na 11 dagen hadden de kolonies de volgende diameter (opgegeven in millimeters):

	A. phaseolorum	*A. Boltshauseri*
bij 17 °C	63, 63, 67	75, 75
bij 22 °C	74, 75, 76, 77	82, 82, 83, 84
bij 24 °C	44, 48, 49	69

Hieruit blijkt, dat de optimale temperatuur voor de beide schimmels tusschen 17 en 24 °C ligt. Om tot een nauwkeuriger bepaling te komen, werden nieuwe cultures bij gemiddelde temperaturen van 18, 20 en 22 °C gezet. Na 12 dagen hadden de kolonies de volgende diameter (opgegeven in millimeters):

	A. phaseolorum	*A. Boltshauseri*
bij 18 °C	66, 66, 68, 68	75, 75
bij 20 °C	72, 73, 74, 74	82, 82, 83, 84
bij 22 °C	72, 73, 73, 75	75, 78, 79, 80

We kunnen hieruit concludeeren, dat de optimale temperatuur voor *A. phaseolorum* vermoedelijk tusschen 20 en 22 °C ligt en voor *A. Boltshauseri* in de buurt van 20 °C. Of het inderdaad een kenmerk van *A. phaseolorum* is, dat haar optimale temperatuur iets hooger ligt dan die van *A. Boltshauseri* kon, met het oog op het geringe aantal parallellen en de niet geheel constante temperatuur in de thermostaten, niet vastgesteld worden. Waarschijnlijk kunnen we ons het best aldus uitdrukken: De optimale temperatuur van de twee Ascochyta spp. is bij 22 °C reeds overschreden.

Met behulp van dekglascultures werd nagegaan, wat de hoogste temperatuur is, waarbij de sporen nog kunnen kiemen. Bij 27 °C kiemden van *A. phaseolorum* nog enkele sporen, van *A. Boltshauseri* nog een klein percentage. De phaseolorumcultuur was echter al geruimen tijd op kunstmatige voedingsbodems voortgekweekt, terwijl de Boltshausericultuur juist even tevoren geïsoleerd was. Het is mogelijk, dat het kleine verschil hieraan geweten moet worden. Bij 28,5 °C kiemde van beide schimmels geen enkele spore meer. We mogen dus aannemen, dat de maximale temperatuur voor het kiemen der sporen in de buurt van 28 °C ligt.

Om de temperatuur te bepalen, waarbij de schimmels gedood worden, werd de volgende proef genomen: Uit een cultuur op kersenagar werden 10 gelijkwaardige stukjes geponst en overgebracht in een buis met steriel water, dat met behulp van een waterbad op een bepaalde temperatuur gebracht was. Gedurende 10 minuten werd die temperatuur nauwkeurig constant gehouden. Daarna werden de stukjes voorzichtig uit het steriele water gevischt en op kersenagar uitgelegd. Tegelijkertijd werden een aantal contrôlestukjes gedurende 10 minuten in steriel water van 20 °C gelegd. Deze groeiden op kersenagar steeds weer uit.

Was het mycelium op de boven beschreven wijze aan een temperatuur van 50 °C blootgesteld geweest, dan groeide het nog een weinig uit. Dit was echter niet meer het geval, wanneer het blootgesteld geweest was aan een temperatuur van 51 °C.

De lethale temperatuur is dus voor beide schimmels onder de gegeven omstandigheden 51 °C.

6. EENIGE FACTOREN,
DIE DE AANTASTING VAN DE PEUL EN VAN HET ZAAD VERGEMAKKELIJKEN

Vijf jonge en vijf oude peulen werden aan één zijde met een mesje licht verwond en daarna aan beide zijden met een sporensuspensie van *A. Boltshauseri* geïnoculeerd. Als contrôle werden één jonge en één oude peul wel verwond, maar niet geïnoculeerd. De peulen bleven aan de planten zitten en werden ieder in een 4 cm wijde en 15 cm lange glazen buis, waarin zich eenige druppels water bevonden, gehangen. De buizen werden zoo goed mogelijk met een wattenprop afgesloten. Onderstaande tabel geeft een samenvattend overzicht over het verloop der aantasting:

TABEL I

Verschil in aantasting van jonge en oude peulen door Ascochyta Boltshauseri

Aantal dagen na inoculatie	Jonge peulen				Oude peulen			
	peulwand verwond		peulwand niet verwond		peulwand verwond		peulwand niet verwond	
	Aantasting van den peulwand	Aantasting van het zaad	Aantasting van den peulwand	Aantasting van het zaad	Aantasting van den peulwand	Aantasting van het zaad	Aantasting van den peulwand	Aantasting van het zaad
2	†	0	0	0	†	0	0	0
7	††	0	0	0	†††	†	†	0
9	††	0	†	0	†††	††	††	†
14	†††	0	††	0	††††	†††	†††	††

0 = niet aangetast, † = zwak aangetast, †††† = zeer sterk aangetast.

Het valt op, dat de verwonde zijden der peulen zooveel sneller en heviger aangetast worden dan de onverwonde, en dat de jonge peulen in beide gevallen minder snel en minder erg aangetast worden dan de oude. Bij de jonge peulen wist de schimmel in 14 dagen tijds het zaad niet te bereiken, zelfs niet door den verwonden peulwand. Bij de oude peulen bereikte ze in korten tijd het zaad: in 7 dagen via den verwonden peulwand en in 9 dagen ook via den onverwonden.

In vochtige afgestorven peulen kunnen de beide schimmels zich heel snel uitbreiden. Ze dringen hier vaak binnen drie dagen tot het zaad door.

Om den invloed van beschadigingen nader te bestudeeren, werden nog eenige proeven genomen met geplukte peulen in reageerbuizen, die met wattenproppen afgesloten werden om de verdamping van het weinigje water, dat in de buizen gedaan was, tegen te gaan. Een aantal peulen werd aan één zijde met carborundum bestrooid en daarna met een wattenpropje voorzichtig bestreken. De andere zijde werd in haar natuurlijken toestand gehouden. Beide zijden werden geïnoculeerd met een sporensuspensie van *A. Boltshauseri*. Onderstaande tabel geeft een beeld van de aantasting van den verwonden en niet verwonden peulwand (blz. 6).

Ook werden eenige peulen over sterielen grond gesleept en daarna geïnoculeerd met sporen van *A. Boltshauseri*, resp. *A. phaseolorum*. De aantasting verliep geheel overeenkomstig tabel II. Het is daarom overbodig hiervoor een aparte tabel op te nemen. Na verloop van 10 dagen waren de zaden onder den aldus beschadigden peulwand reeds aangetast, terwijl de schimmels in dienzelfden tijd aan de onbeschadigde zijde het zaad nog niet bereikt hadden.

Een contrôlepeul was wel over sterielen grond gesleept, maar daarna niet geïnoculeerd. Deze vertoonde geenerlei verkleuring en bleef egaal groen.

Een principiëel verschil tusschen de aantasting door *A. Boltshauseri* en door *A. phaseolorum* werd niet waargenomen. Alleen was die van *A. phaseolorum* iets minder erg dan die van *A. Boltshauseri.*

TABEL II

Mate van aantasting van peulen van Phaseolus vulgaris door Ascochyta Boltshauseri. De niet verwonde zijde is de natuurlijke toestand. De andere zijde werd licht met carborundum beschadigd

Aantal dagen na inoculatie	Peul	Aantasting van de niet verwonde zijde	Aantasting van de verwonde zijde
2	A	0	†
	B	0	†
	C	0	†
	D	0	†
	contr.	0	0
5	A	0	†††
	B	0	††
	C	†	†††
	D	0	††
	contr.	0	0
9	A	†	††††
	B	†	†††
	C	††	††††
	D	†	†††
	contr.	0	0

0 = geen uiterlijke kenteekenen van een aantasting;
† = zwak aangetast; †††† = zeer sterk aangetast.

Uit de resultaten van de bovenbeschreven proeven kunnen de volgende conclusies getrokken worden:

1. Oude peulen worden gemakkelijker geïnfecteerd en de schimmels bereiken hier sneller het zaad dan bij jonge peulen. Bij vochtige afgestorven peulen vindt de infectie nog gemakkelijker plaats en wordt het zaad nog sneller aangetast.
2. Verwondingen, ook al zijn ze met het bloote oog niet zichtbaar, vergemakkelijken de infectie zeer en geven de schimmels gelegenheid om snel tot het zaad door te dringen.

Op het veld zien we, dat de ziekte zich vooral in den nazomer sterk uitbreidt en dat dan ook de peulen aangetast worden. Ook zien we vaak, dat de Ascochyta's zich snel uitbreiden en vele zaden aantasten, als het gewas op de ruiters of aan de tollen nat wordt. Er kan dan groote schade aangericht worden.

De nazomer onderscheidt zich van den voor- en middenzomer door koeler en vochtiger weer, terwijl de regenbuien meestal met meer wind gepaard gaan. Reeds eerder werd opgemerkt, dat koel en vochtig weer gunstig is voor de ontwikkeling van de Ascochyta's. De regen is de voornaamste verspreider van de sporen, en ook voor het kiemen der sporen is water noodig. De wind kan oorzaak zijn van beschadigingen der peulen, waardoor, zooals juist is aangetoond, den schimmels de infectie gemakkelijker gemaakt wordt. We zien dikwijls, dat peulen, die in aanraking kunnen komen met den grond, het sterkst aangetast worden. Dit kan zijn

oorzaak vinden in de grootere vochtigheid vlak bij den grond, maar ook in de beschadigingen, die ontstaan door het heen en weer schuren over den grond en het opspatten van gronddeeltjes tegen de peulen, als het regent. Tenslotte worden in den nazomer de peulen rijp en sterven af. In dat stadium zijn ze een gemakkelijke prooi voor de Ascochyta's.

De gevonden resultaten blijken geheel in overeenstemming te zijn met de waarnemingen op het veld.

7. HET OVERWINTEREN VAN DE SCHIMMELS

Reeds werd vermeld, dat de schimmels met het zaad worden overgebracht. Getracht is de vraag te beantwoorden of zij ook op andere wijze overwinteren.

Acht Erlenmeyers werden half gevuld met vochtigen bladgrond en driemaal gesteriliseerd. Aan drie ervan werd een sporensuspensie van *A. Boltshauseri* toegevoegd en aan drie andere een sporensuspensie van *A. phaseolorum.* Deze zes Erlenmeyers werden met de twee contrôles in het begin van December 1942 buiten gezet, zoodanig, dat de wattenproppen niet nat konden worden.

In April 1943 waren de schimmels in de zes Erlenmeyers nog steeds in leven. In de twee contrôles werd geen schimmelgroei waargenomen. Hierbij dient opgemerkt te worden, dat de winter van 1942 op 1943 niet erg koud geweest is, hoewel het in December en Januari toch wel eenigen tijd gevroren heeft. De schimmels kunnen dus in den grond overwinteren. Of ze zich ook onder natuurlijke omstandigheden en gedurende strenge winters in de bodemflora weten te handhaven, is echter niet bekend.

Pycniden van *A. Boltshauseri* op een Pronkerpeul, die 21 maanden droog, d.w.z. onder voor de schimmel ongunstige omstandigheden, bewaard was, leverden, toen ze vochtig gemaakt werden, nog volkomen kiemkrachtige sporen.

Deze twee waarnemingen leveren echter nog geen directe bewijzen voor een overwintering van de schimmels buiten het zaad. Wel mogen we zeggen: De mogelijkheid is niet uitgesloten, dat de schimmels in den grond en op resten van zieke planten kunnen overwinteren.

8. DE VATBAARHEID VAN DE BOONENRASSEN

Niet alle boonenrassen zijn even vatbaar voor de Ascochyta-vlekkenziekte. PETRAK (7) heeft hier het eerst op gewezen. Hij constateerde, dat Pronkboonen en het stokboonenras „Korbfüller-Wachs" niet of slechts weinig werden aangetast. Bij stamboonen vond hij een veel sterker aantasting, vooral bij het ras „Blauschotige Butter". De opmerking, dat stokboonen minder vatbaar zouden zijn dan stamboonen, is echter onjuist. Het is wel waar, dat stokboonen over het algemeen minder sterk aangetast worden dan stamboonen, maar dit moet geweten worden aan het verschil in groeiwijze. Bladeren en peulen van stokboonen drogen nl. na een regenbui weer snel op, zoodat de sporen, die erop terecht gekomen zijn, niet tot ontkieming kunnen komen, waardoor de planten dan vrij blijven van een aantasting.

Alle in Nederland verbouwde boonenrassen zijn min of meer vatbaar voor de Ascochyta-vlekkenziekte.

Van de landbouwstamboonen zijn vooral de witte, o.a. de rassen Blanka, Walcheria, Witte Krombek en Witte Stamboon C.B. nogal vatbaar. De vlekken vallen hier sterk op en de schade kan dan ook vaak zeer aanzienlijk zijn. De Aka-, Beka- en Ceka bruine boon zijn iets minder vatbaar en de Noordhollandsche bruine boon en de Groninger Stroogele boon zijn betrekkelijk weinig vatbaar.

Bij de sla- en snijboonen meent HUBBELING (4) verband te kunnen leggen tusschen de mate van vroegrijpheid en de mate van aantasting. De vroegrijpe rassen zouden minder van de ziekte te lijden hebben dan de laatrijpe. Daar de omstandigheden voor de ontwikkeling van de schimmels met het vorderen van het seizoen gunstiger worden, ontsnappen de vroegrijpe rassen min of meer aan de ziekte.

Over het bestaan van physiologische rassen van *Ascochyta phaseolorum* en *A. Boltshauseri* is niets bekend.

9. BESTRIJDING

Vele planten, die aanvankelijk gezond waren en in den loop van het seizoen besmet werden, noemen wij „primair" ziek. Daar de ziekte meestal optreedt in de planten, die opgroeien uit de zaden, welke zij voortbrengen, kunnen wij deze laatste planten „secundair" ziek noemen. De besmetting gaat hoofdzakelijk uit van zulke secundair zieke planten. Een der eerste maatregelen moet dus zijn, te zorgen voor gezonde kiemplanten. Het gezonde zaaizaad, dat hiervoor noodig is, kunnen we op de volgende manieren verkrijgen:

1. Door selectie van gezonde peulen te velde en drogen van deze peulen op een luchtige plaats, die tegen den regen beschermd is.
2. Door uit een gewoon geoogste partij de niet aangetaste peulen uit te zoeken.
3. Door het vermeerderen van boonen in een kas. Door de hooge temperatuur en de geringe vochtigheid is het besmettingsgevaar hier gering. Het verdient aanbeveling de planten niet te besproeien, maar den grond langs een anderen weg te bevochtigen om te voorkomen, dat eventueel aanwezige sporen over de planten verspreid zouden worden. Het vermeerderen in een kas kan natuurlijk alleen op kleine schaal gebeuren, b.v. ter verkrijging van gezond stamzaad.

Het verwijderen van aangetaste zaden door handlezen is niet afdoende om geheel gezond zaaizaad te verkrijgen.

De schimmels kunnen jarenlang in het zaad blijven leven. Bij een proef met zaad, dat twee en een half jaar droog bewaard was, leverden alle aangetaste zaden zieke kiemplanten. Het gebruik van overjarig zaaizaad levert daarom geen resultaat op.

Ook droogontsmetting helpt niet, daar de schimmels te diep in het zaad doordringen.

Daar bekend was, dat de lethale temperatuur van beide schimmels 51 °C is, werd een proef genomen met warmwaterontsmetting. De boonen, die hierbij gebruikt werden, vertoonden alle uitwendig de bekende Ascochyta-vlekken. De resultaten zijn in onderstaande tabel samengevat.

TABEL III

Warmwaterontsmetting tegen de Ascochyta-vlekkenziekte van Witte Stamboon C.B. Kiemtemperatuur 20 °C

Aantal boonen	10 minuten geweekt in	Temp.	Totoal gekiemd	Gezonde kiempl.	Zieke kiempl.	Door Asc. gedood	Gerot
40	water	20 °C	90%	50 %	40 %	–	10%
60	water	51 °C	25%	1,7%	23,3%	35%	40%

Hieruit blijkt, dat door de warmwaterontsmetting een groot aantal boonen gedood wordt. Tevens zien we dat van het geringe percentage dat na de be-

handeling nog kiemde, bijna alle kiemplanten aangetast waren. Het lijkt wel of de boonen door de warmwaterbehandeling meer verzwakt worden dan de schimmels. Twee omstandigheden kunnen misschien de oorzaak zijn van het blijven leven der parasieten: In de eerste plaats is het mogelijk, dat de temperatuur van 51 °C in de boon niet bereikt wordt en in de tweede plaats is het mogelijk, dat de schimmels onder natuurlijke omstandigheden beter tegen hooge temperaturen bestand zijn dan onder kunstmatige. (De lethale temperatuur werd bepaald met mycelium, dat op kersenagar gegroeid was. Zie par. 5.)

Daar het nog hooger opvoeren van de temperatuur, of het verlengen van den duur der behandeling, de kiemkracht van de boonen waarschijnlijk te veel zou schaden, werd naar een oplossing gezocht in de richting van een warmwaterbehandeling bij een iets lagere temperatuur, maar dan in een Ceresanoplossing.

De proef werd genomen met Ceka bruine boonen, die uitwendig alle de Ascochyta-vlekken vertoonden. Tabel IV geeft de resultaten weer.

TABEL IV

Aantal boonen	10 minuten geweekt in	Temp.	Totaal gekiemd	Gezonde kiempl.	Zieke kiempl.	Door A c. gedood	Gerot
20	water	20 °C	18	8	10	2	–
20	Ceresanopl. (¼%)	20 °C	18	11	7	2	–
20	water	50 °C	14	2	12	6	–
20	Ceresanopl. (¼%)	50 °C	12	5	7	3	5

Bij 50 °C wordt het kiemvermogen nog aanmerkelijk verminderd, vergeleken bij de contrôle. Het aantal gezonde planten is bovendien geringer en het aantal zieke grooter.

De natontsmetting met Ceresan bij 20 °C heeft het aantal gezonde kiemplanten vergroot en het aantal zieke verminderd. De behandeling is echter niet afdoende.

De warmwaterbehandeling in een Ceresanoplossing heeft gunstiger resultaten opgeleverd dan een warmwaterbehandeling zonder meer. Toch ligt de verhouding tusschen het aantal gezonde en zieke planten hier aanmerkelijk ongunstiger dan bij de natontsmetting bij kamertemperatuur.

Hoewel het aantal boonen, waarmee de proef genomen werd, te klein is om er met zekerheid conclusies uit te mogen trekken, mogen we toch wel aannemen, dat van een warmwaterbehandeling van boonen ter voorkoming van de Ascochyta-vlekkenziekte niet veel heil te verwachten is. Natontsmetting bij kamertemperatuur werkt gunstig, maar is niet afdoende.

Op het veld kunnen we de ziekte tegengaan door de secundair zieke planten zoo snel en zoo goed mogelijk te verwijderen. Geheel afdoende zal dit echter moeilijk kunnen zijn. De bezwaren, die KOOPMAN (6) opsomt, verbonden aan het selecteeren van secundair zieke planten bij de vetvlekkenziekte, doen zich hier ook voor:

1°. gaat het veel langzamer dan het selecteeren van aardappels, daar het aantal planten per ha ongeveer 7 à 8 maal zoo groot is als bij aardappels,
2° overgroeien de gezonde planten de zieke zeer gemakkelijk, zoodat men, ook bij zeer goed zoeken, nog niet alle secundair zieke planten zal vinden,
3° komen na de eerste selectie nog enkele zieke plantjes boven. Daar het gewas intusschen gegroeid is, zal men deze bij een tweede selectie uiterst moeilijk vinden.

Ascochyta pisi, *A. pinodella* en *Mycosphaerella pinodes* zijn gevoelig voor koperzouten (12). Het is daarom niet uitgesloten, dat ook *Ascochyta phaseolorum* en *A. Boltshauseri* met behulp van koperhoudende stoffen bestreden zouden kunnen worden. Indien dit zoo is, zouden we twee vliegen in één klap kunnen vangen, daar de vetvlekkenziekte ook door sproeien met koperhoudende middelen bestreden kan worden. Het is daarom wenschelijk, proeven in deze richting te nemen. Tot dusver zijn er nog geen resultaten bekend.

Er werd reeds de aandacht op gevestigd (zie par. 6), dat de schimmels natte afgestorven peulen zeer gemakkelijk kunnen aantasten en er zich sterk in uitbreiden, waardoor het zaad snel geïnfecteerd wordt. Het is daarom van het grootste belang ervoor te zorgen, dat de peulen, als ze eenmaal rijp zijn, niet onnoodig nat worden. Men oogste daarom niet te laat. Het beste kan men de planten direct na het optrekken onder een afdak, in een droogschuur of op een droogzolder hangen. Hier zijn ze beschut tegen den regen, terwijl er toch een voldoende luchtcirculatie is, noodig voor het drogen. In het groot is deze methode helaas niet uitvoerbaar. Indien het maar eenigszins mogelijk is, behandele men echter tenminste de planten, waar men zaaizaad van wil houden, op deze manier.

In West-Friesland gebruiken de tuinbouwzaadtelers veelal schansen om de boonen op te drogen. Is het mistig of regenachtig, dan worden deze schansen met rietmatten afgedekt. Dit is een heel goede oogstmethode, maar eischt zeer veel arbeid en materiaal en is daarom ook alleen op kleine schaal toepasbaar.

Voor den landbouw is de beste oogstmethode om de Ascochyta-vlekken op het zaad zooveel mogelijk te beperken ongetwijfeld de recht opgetaste tol, die van boven afgedekt wordt met stroo en van onder rust op twee aardappelkiembakjes. Hierdoor wordt het inregenen voorkomen en is nat worden vanaf den grond uitgesloten. Het voordeel van het gebruik van aardappelkiembakjes i.p.v. een onderlaag van stroo is, dat de luchtcirculatie onder in den tol mogelijk gemaakt wordt. Verder zakt de tol niet zoo gauw scheef.

Gebruikt men ruiters, dan verdient het aanbeveling deze vrij steil te plaatsen en de boonen niet te vast erop te tassen, daar ze, vooral als ze bladrijk zijn, gemakkelijk gaan „pakken", wat voor het drogen zeer nadeelig is.

Samenvatting van de bestrijdingsmiddelen:

1. Uitgaan van gezond zaaizaad. Dit is het best te verkrijgen door het selecteeren van gezonde peulen. Handlezen van het zaad is niet geheel afdoende. In overjarig zaad zijn de schimmels niet dood.
2. Natontsmetting bij kamertemperatuur helpt wel, maar niet afdoende.
3. Proeven met een warmwaterbehandeling gedurende 10 minuten bij 50 en 51 °C leverden een negatief resultaat op, ook wanneer de behandeling bij 50 °C in een Ceresanoplossing van $\frac{1}{4}$% plaats vond.
4. Op het veld moet men, zoo mogelijk, de secundair zieke planten vroeg verwijderen. Dit kan echter niet geheel aan het gestelde doel beantwoorden.
5. Men moet niet te laat oogsten en de peulen daarbij zoo goed mogelijk tegen nat worden beschermen.

10. MORPHOLOGIE, SYSTEMATISCHE PLAATS EN NOMENCLATUUR VAN ASCOCHYTA PHASEOLORUM SACC. EN ASCOCHYTA BOLTSHAUSERI SACC.

SACCARDO beschrijft in het derde deel van zijn Sylloge Fungorum op pag. 398 de eerste schimmel als volgt:

> Ascochyta phaseolorum – Maculis indeterminatis, arescendo ochraceis; peritheciis epiphyllis, globoso-lenticularibus, 100 μ diam., pertusis; sporulis oblongis, constricto 1-septatis, 10–3 μ, 2 guttulatis, hyalinis.
> Hab. in foliis Phaseoli vulgaris, Selva in Ital. bor.

Ascochyta Boltshauseri beschrijft hij in het tiende deel van zijn Sylloge Fungorum op pag. 303 als volgt:

> Ascochyta Boltshauseri – Foliicola; maculis subcircularibus, ochraceo-brunneis, distinctius epiphyllis, margine subconcoloribus, peritheciis innatis, parcis, globulosis, 100–150 μ diam., tenui-membranaceis, brunneis, ostiolo rotundo pertusis; sporulis tereti-oblongis, utrinque rotundatis, constricto 1-septatis, non raro 2-septatis, varie guttulatis, hyalinis, 22–28, 7–8 μ.
> Hab. in foliis Phaseoli vulgaris, cui noxa, in Helvetia (H. Boltshauser). – Ab Ascochyta pisi et A. phaseolorum mox differt sporulis conspicue majoribus et non raro 2-septatis. – Ascochyta pisi f. foliicola Sacc. et March., sporulis 16–18 μ, 5–6 μ, est potius var. praesentis specei.

Het valt op, dat de beide schimmels slechts als parasieten van het blad worden aangemerkt. DIEDICKE (3) en VAN POETEREN (8) vonden *A. Boltshauseri* ook op peulen en PETRAK (7) tevens op den stengel. HUBBELING (5) vermeldt, dat de beide schimmels op alle deelen van de plant voor kunnen komen, zelfs op de wortels. Eigen waarnemingen bevestigen dit.

Verder werden de volgende afwijkingen van de beschrijvingen van SACCARDO waargenomen:

1. Alleen de vlekken van *A. Boltshauseri* worden als rond beschreven en die van *A. phaseolorum* als ongedefinieerd.
   Op peulen komt het veel voor, dat de vlekken van beide onregelmatig zijn. Op de bladeren treffen we vaak bij beide soorten ronde vlekken aan met concentrische ringen.
2. De pycniden van *A. phaseolorum* wijken niet veel van den bolvorm af. Ze zijn over het algemeen niet linsvormig.
3. Op een Pronkerpeul werden 35 pycniden van *A. phaseolorum* gemeten. De diameter wisselde van 80–200 μ, gemiddelde 135 μ. Dit is dus iets grooter dan het gemiddelde, dat SACCARDO opgeeft. De lengte der sporen bedroeg 6–11 μ, gemiddeld 9,1 μ en de breedte 3–4 μ. Deze maten komen dus goed overeen met die van SACCARDO. Van de sporen was ongeveer 30 % ééncellig.
   SPRAGUE (10) geeft als diameter voor de pycniden van *A. phaseolorum* op: 135–180 μ en voor de afmetingen der sporen: 7 $\times$ 2,5 μ. Hij vond, dat 70 % der sporen twee- en 30 % ééncellig was.
4. De diameter van pycniden van *A. Boltshauseri*, gevonden op Pronkerpeulen, varieerde van 120–340 μ, gemiddelde 220 μ (102 metingen). Dit is aanmerkelijk grooter dan de gemiddelde diameter van SACCARDO. De lengte der sporen wisselde van 20–33 μ, gem. 24,9 μ (51 metingen) en de breedte van 7–10 μ, gem. 7,9 μ. Dit komt goed overeen met SACCARDO's opgaven.

SPRAGUE (11) vond bij pycniden op peulen een diameter van 120–150 μ en op bladeren van 60–130 μ.

Hieruit blijkt wel, dat de diameter der pycniden nogal kan varieeren.

5. De sporen van *A. Boltshauseri* zijn overwegend driecellig en niet zelden viercellig. Een enkele maal werd een vijfcellige spore gezien. Van 51 willekeurige sporen waren er 2 viercellig, 36 driecellig en 13 tweecellig.

PETRAK (7) en SPRAGUE (11) zagen ook vier- en vijfcellige sporen; de laatste zelfs een zescellige.

Isoleeren we *A. Boltshauseri* van een boonenplant en enten we haar op een agarbodem, dan vormt ze in het begin nog wel pycniden, maar na eenige overentingen wordt dit minder en tenslotte worden in het geheel geen vruchtlichamen meer gevormd. Op gesteriliseerde boonenstengels blijft de schimmel betrekkelijk goed fructificeeren, ook al wordt dit na verloop van een aantal overentingen wat minder. De afmetingen van de sporen, welke op kunstmatige voedingsbodems ontstaan, zijn aanmerkelijk kleiner dan van sporen, die op een natuurlijk substraat gevormd worden. De lengte van sporen, afkomstig van een gesteriliseerden boonenstengel, varieerde van 5–9 μ en bedroeg gemiddeld 6,8 μ. Ze waren 2–3 μ breed. Alle waren ééncellig. De diameter van de pycniden schommelde op gesteriliseerde boonenstengels tusschen 90 en 310 μ, gemiddelde 200 μ (104 metingen).

Op kersenagar werden eens 5 pycniden in één schaal aangetroffen, diameters: 100, 220, 250, 280 en 480 μ. Ze waren dus nogal onregelmatig van grootte. De lengte der sporen bedroeg hier gemiddeld 7 μ en de breedte 2–3 μ. Ook hier waren alle sporen ééncellig.

A. phaseolorum fructificeert zoowel op kersenagar als op gesteriliseerde boonenstengels overvloedig. De volgende maten werden opgenomen:

Op kersenagar:

Pycniden:	70–390 μ, gemiddeld 152 μ	(75 metingen)
Sporen:	lengte 4–7 μ, gemiddeld 5,5 μ	(51 metingen)
	breedte gemiddeld 2 μ	(51 metingen)
	Alle waren ééncellig.	

Op gesteriliseerde boonenstengels:

Pycniden:	30–110 μ, gemiddeld 65 μ	(60 metingen)
Sporen:	lengte 4–6 μ, gemiddeld 5 μ	(51 metingen)
	breedte gemiddeld 2 μ	(51 metingen)
	Alle waren ééncellig.	

Het verschil in diameter van de pycniden valt op. Op kersenagar zijn ze grooter dan in de natuur (daar werd een gemiddelde van 135 μ gevonden) en op gesteriliseerde boonenstengels aanzienlijk kleiner. De sporen bereiken in beide gevallen maar de helft van hun natuurlijke grootte.

Het valt tevens op, dat de sporen van *A. phaseolorum* en van *A. Boltshauseri* op kunstmatige voedingsbodems een zóó groote gelijkenis vertoonen, dat ze niet van elkaar te onderscheiden zijn. Onwillekeurig komt daardoor de vraag naar voren: Is *A. phaseolorum* misschien een gedegenereerde vorm van *A. Boltshauseri*? Het is moeilijk deze vraag met zekerheid te beantwoorden.

Brengen we de gedegeneerde sporen van *A. Boltshauseri* op een levende boonenplant, dan komen er weer sporen uit voort, die de normale afmetingen van 25 × 8 μ hebben.

De gedegeneerde sporen van *A. phaseolorum* daarentegen brengen op levende

planten sporen voort van de voor die soort normale afmetingen van 9–10 × 2–3 μ.

Op kunstmatige voedingsbodems gedragen de schimmels zich op eenige punten ook verschillend. Het voornaamste verschil is wel, dat *A. phaseolorum* op vrijwel alle kunstmatige voedingsbodems zeer goed fructificeert en *A. Boltshauseri*, met uitzondering van gesteriliseerde boonenstengels, op geen enkele een noemenswaardig aantal pycniden vormt, vooral niet, wanneer de schimmel al eenigen tijd op kunstmatige voedingsbodems gekweekt is.

A. phaseolorum vormt op agarbodems maar weinig luchtmycelium. Het kruipend mycelium en dat in de agar is donkerbruin, tot soms bijna zwart, van kleur. *A. Boltshauseri* vormt wel veel luchtmycelium, dat groenig-grijs tot wit-grijs kan zijn. Het kruipend mycelium is ook donker gekleurd.

Sectorvorming werd bij *A. Boltshauseri* éénmaal waargenomen. Bij het voortkweeken bleven beide vormen constant. Ze waren weinig vruchtbaar.

Het is niet mogelijk om uit deze gegevens met eenige zekerheid een conclusie te trekken. Zoolang nog geen nadere onderzoekingen in deze richting gedaan zijn, is het waarschijnlijk het beste om *A. phaseolorum* en *A. Boltshauseri* als twee zelfstandige soorten te blijven beschouwen.

Het geslacht *Ascochyta* behoort tot de familie *Sphaerioideae* van de orde *Sphaeropsidae* van de Fungi imperfecti.

Over den naam en de plaats van *A. phaseolorum* in deze indeeling zijn vrijwel alle auteurs het eens. Minder eenstemmigheid heerscht er echter over *A. Boltshauseri*. De moeilijkheid ligt hier bij het veelvuldig voorkomen van drie- en viercellige sporen en bij den bouw van den wand der pycniden.

Diedicke (3) voerde het nieuwe geslacht Stagonosporopsis (= op Stagonospora gelijkend) in, waarvan de voornaamste kenmerken zijn: twee- tot driecellige hyaliene sporen en een pseudopycnidiaal vruchtlichaam. Bij dit nieuwe geslacht deelt hij *A. Boltshauseri* in als *Stagonosporopsis Boltshauseri* (Sacc.) Died.

Petrak (7) concludeerde, dat *A. Boltshauseri* Sacc. en *Stagonospora hortensis* Sacc. et Malbr. identiek zijn. Hij stelt daarom nog weer een anderen naam voor: *Stagonosporopsis hortensis* (Sacc. et Malbr.) Petr.

Sprague (11) meent, dat *A. Boltshauseri* ook identiek is met *Stagonopsis phaseoli* Eriks. Hij komt op tegen de invoering van het geslacht Stagonosporopsis en de indeeling van *A. Boltshauseri* hierbij (10 en 11).

Onder een pseudopycnidiaal vruchtlichaam verstaat Diedicke (2) een pycnide, waarvan de onderste helft van den wand niet uit parenchymatisch weefsel bestaat, maar uit een los weefsel van myceliumdraden. Sprague vindt, dat de naam pseudopycnidiaal niet opgaat voor het vruchtlichaam van *A. Boltshauseri*. Aan de bezwaren van laatstgenoemden auteur zouden we nog toe kunnen voegen, dat viercellige sporen bij *A. Boltshauseri* geen uitzondering zijn en dat het geslacht Stagonosporopsis hier, strikt genomen, niet in voorziet.

Als men *A. Boltshauseri* dan persé niet in het geslacht Ascochyta wil handhaven, zou men deze schimmel misschien nog het beste bij het geslacht Stagonospora kunnen indeelen, ook uit historische overwegingen, daar Sacc. et Malbr. haar reeds als *S. hortensis* beschreven (zie boven, Petrak). De voornaamste kenmerken van het geslacht Stagonospora zijn: vruchtlichamen ware pycniden, sporen hyalien, elliptisch of spoelvormig, met twee of meer tusschenwanden. De tweecellige sporen worden hier dus buitengesloten.

Sprague (10) bestrijdt ook de door Saccardo naar voren gebrachte mogelijkheid, dat *Ascochyta pisi f. foliicola* Sacc. et March. een variëteit van *A. Bolts-*

hauseri zou zijn (zie aanhangsel van de beschrijving van *A. Boltshauseri*). SPRAGUE voert hier o.a. aan, dat het aantastingsbeeld van *A. Boltshauseri* met zijn duidelijk begrensde vlekken met concentrische ringen niets gemeen heeft met dat van *A. pisi*, zooals dat voorkomt op *Pisum sativum* en *Vicia faba* en verder de onvatbaarheid van *Phaseolus vulgaris* voor alle variëteiten van *Ascochyta pisi*.

Later bleek hem ook, dat *Ascochyta Boltshauseri* andere vlinderbloemigen, waaronder de erwt, niet aantast (11).

Eigen proeven, waarbij *Phaseolus vulgaris* geïnoculeerd werd met *Ascochyta pisi* en *Pisum sativum* met *Ascochyta Boltshauseri*, vielen alle negatief uit en bevestigden dus de waarnemingen van SPRAGUE.

Uit dit korte overzicht blijkt, dat het moeilijk is om *Ascochyta Boltshauseri* bij een bepaald geslacht onder te brengen, zonder dat er bedenkingen tegen ingebracht kunnen worden.

Terecht maakt o.a. DIEDICKE (3) bezwaar tegen de handhaving van deze schimmel in het geslacht *Ascochyta*, waartoe hij alleen maar schimmels met tweecellige sporen wil rekenen.

Aan den anderen kant pleit er echter ook veel voor, om de betrokken fungus tot het geslacht *Ascochyta* te blijven rekenen. Deze indeeling heeft eenmaal burgerrecht verkregen en er zijn niet méér bezwaren tegen in te brengen dan tegen de voorgestelde nieuwe indeelingen, o.a. van DIEDICKE en tegen nieuwe namen, o.a. van PETRAK. Deze auteurs zijn het er geheel over eens, dat *A. phaseolorum* tot het geslacht *Ascochyta* behoort. *A. Boltshauseri* is van deze soort onder natuurlijke omstandigheden slechts met het microscoop te onderscheiden en op kunstmatige voedingsbodems is de overeenkomst in vorm en grootte van de sporen zóó treffend, dat hierboven zelfs de vraag rees, of *A. phaseolorum* misschien niet een gedegenereerden vorm van *A. Boltshauseri* is.

Daarom is er, niettegenstaande het feit, dat er naast de tweecellige sporen zeer veel driecellige en zelfs eenige viercellige voorkomen, veel voor te zeggen *Ascochyta Boltshauseri* onder haar ouden naam te handhaven.

SUMMARY

The Ascochyta-spot diseases of Phaseolus

1. A summary of the literature is given.
2. The Ascochyta-spot diseases of the bean (Phaseolus) are caused by *Ascochyta phaseolorum* SACC. and *Ascochyta Boltshauseri* SACC. Symptomatically the two diseases resemble each other. They are transmitted by the seeds. In the seedling stage a brown stripe, later turning black, is observed on the hypocotyl. During cool and wet weather the fungi attack nearly the whole plant. The leafspots show concentric rings. The spots on the pods are less regular than those on the leaves. The spores are distributed chiefly by rain. In a wet spell during the latter part of the summer the diseases spread to such an extent that the leaves die prematurely and only the dark brown stems with the brown pods remain. During the ripening of the pods the fungi also infect the seeds on which dark spots with greenish-gray edges appear. The spots caused by *Colletotrichum Lindemuthianum* can be distinguished from the Ascochyta spots in two ways:
   a. The Colletotrichum spots on the various parts of the plant are sunken and surrounded by a somewhat raised yellowish wall, giving them a sharply demarcated margin; the Ascochyta spots are not sunken and are less sharply demarcated.

b. On the seeds the Colletotrichum spots are surrounded by a light brown border, the Ascochyta spots by a greenish-gray one.

Microscopical differences:

a. The spores of Colletotrichum are one-celled; those of *A. phaseolorum* are two-celled, those of *A. Boltshauseri* two-, three- or four-celled.

b. Colletotrichum sporulates in acervuli; both Ascochytas in pycnidia.

3. The Ascochytas do not infect through the stomata but by penetrating the cuticle. They grow at first subcuticularly and subsequently intercellularly.
4. The Ascochyta attack results chiefly in depreciating the quality of the pods (of the green harvested varieties) and the seeds (of the dry harvested varieties).
5. The optimal temperature of both Ascochytas is already exceeded at 22 °C. The maximal temperature for spore-germination is about 28 °C. The lethal temperature for the mycelium is 51 °C.
6. Old pods are more easily infected and the seeds in them are more easily reached than young pods. The pods become infected still more easily after their death, especially when they are wet. Lesions, even so small that they cannot be seen with the naked eye, are very conducive to infection.
7. It is possible that the fungi overwinter in the soil or on infected parts of the plants remaining on the field.
8. All varieties of beans cultivated in the Netherlands are susceptible to these diseases. Of the varieties cultivated as field crops white beans suffer most.
9. Plants primarily infected from the seeds serve as sources of infection for neighbouring plants. Disease free seeds should be planted. For this purpose disease free pods ought to be selected. Removal of diseased seeds by hand-picking is not sufficient. The fungi remain viable in seeds which have overwintered twice. Treatment of the seeds with disinfecting fluids is only in partially effective. Hot water treatment is not expected to lead to any useful result. Extermination of plants primarily infected from the seed is not sufficient to obtain an entirely healthy crop. Since the fungi in wet dead pods quickly reach the seeds, the harvest should not be delayed and the pods should be prevented from getting wet.
10. The spores of *A. phaseolorum*, according to SACCARDO, have a length of 10 and a width of 3 μ; those of *A. Boltshauseri* measure 22–28 $\mu \times$ 7–8 μ. The measurements observed in Wageningen are about the same. The diameter of the pycnidia varies rather widely.

A. Boltshauseri fruits poorly on artificial media, as opposed to *A. phaseolorum*. On sterile media the spores of both species have the same dimensions (about 6 $\times$ 2 μ) and are always one-celled. Under natural conditions *A. phaseolorum* is two-celled and *A. Bolthauseri* two-, three- and four-celled, exceptionally five-celled, mostly however, three-celled.

The genus Ascochyta is described as having two-celled spores. Since *A. Boltshauseri* often has three- or four-celled spores it may be placed in other genera. Synonyms are:

Stagonospora hortensis SACC. et MALBR.

Stagonopsis phaseoli ERIKS.

Stagonospora Boltshauseri (SACC.) DIED.

Stagonosporopsis hortensis (SACC. et MALBR.) PETR.

Pisum sativum is not a host of *A. phaseolorum* or of *A. Boltshauseri*, neither is *Phaseolus vulgaris* a host of *A. pisi*.

LITERATUUR

1. Boltshauser, H.: Blattflecken der Bohne. Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten, Bd. 1, 1891.
2. Diedicke, H.: Die Abteilung Hyalodidymae der Sphaerioideen. Ann. Mycol. 10, 1912.
3. Diedicke, H.: Pilze VII. Kryptogamenflora der Mark Brandenburg, Bd. IX, 1915.
4. Hubbeling, N.: Vatbaarheid van stamslaboonenrassen voor ziekten, welke met het zaaizaad overgaan. Med. v. d. Inspecteur v. d. Tuinbouw en het Tuinbouwonderwijs, Mei 1944.
5. Hubbeling, N.: Overzicht der voornaamste Boonenziekten. Ter perse.
6. Koopman, C.: De bestrijding der vetvlekkenziekte. Tijdschr. over Plantenziekten, Vol. 50, 3e afl., 1944.
7. Petrak, F.: Mykologische Notizen II, 32. Ann. Mycol. 19, 1921.
8. Poeteren, N. van: Ziekten van Groentegewassen. Maastricht 1918.
9. Saccardo, P.: Sylloge Fungorum, Vol. III en X.
10. Sprague, R.: Hostrange and lifehistory studies on leguminous Ascochytae. Phytopathology, Vol. 19, 1929.
11. Sprague, R.: Ascochyta Boltshauseri on beans in Oregon. Phytopathology, Vol. 25, 1935'
12. Wehlburg, C.: Onderzoekingen over Erwtenanthracnose. Diss. Utrecht, 1932.

Instituut voor Phytopathologie
Laboratorium voor Mycologie
en Aardappelonderzoek

Wageningen, Juni 1945

VAAT- EN VOETZIEKTEN IN AMERIKAANSE ANJERS

DOOR

J. W. M. Roodenburg

Toen ik in 1939 opdracht kreeg een begin te maken met het wetenschappelijk onderzoek ten behoeve van de bloementeelt, waren er in Aalsmeer vele problemen, welke mijn aandacht vroegen. Al spoedig bleek, dat men vooral belang stelde in het onderzoek van bepaalde ziekten en plagen, waarvoor nog geen afdoende bestrijdingsmiddelen gevonden waren. De geschiedenis van vele proefstations toont duidelijk aan, dat ziekte-onderzoek steeds één van de eerste dingen is, waarvoor men de hulp van de wetenschap inroept. Zo ook hier, en een van de op te lossen vragen was, hoe men de cultuur van Amerikaanse anjers gezond kan houden.

Deze cultuur is in Aalsmeer pas in de laatste tien jaren van betekenis geworden; tengevolge van de crisis brachten de rozen niet genoeg meer op en zocht men naar naar andere gewassen. De anjers stellen echter hogere eisen aan de verzorging dan de rozen, en men heeft er heel wat moeite voor over gehad om er goede cultures van op te zetten. De eerste jaren waren nog niet de moeilijkste, want men teelde op grond, waarin nog nooit anjers gestaan hadden. Later was echter, toen men in dezelfde kas weer anjers wilde poten, de ontwikkeling niet altijd zo bevredigend. Een goed gewas blijft gewoonlijk drie jaar achtereen staan en wordt dan opgeruimd. Nu echter ging soms het gewas al eerder achteruit, zodat reeds na twee, soms zelfs na één jaar weer opgeruimd moest worden. Hierdoor ging de

rentabiliteit van zo'n kas sterk achteruit, want in het tweede jaar kan eigenlijk pas de grote massa bloemen gesneden worden.

Reeds lang wist men dat allerlei voorzorgen van stoken, luchten, niet te diep planten, vermijden van vochtovermaat, enz. bevorderlijk waren voor de gezondheid van de anjers. Toch kon dit alles niet steeds baten. Bij een zeer zorgvuldige cultuur kreeg men nog bij een gewas, dat de eerste maanden goed gegroeid was, in de zomer plotseling wegvallen van planten, geel worden, verwelken en verdorren. Men dacht aan *Fusarium*-aantasting van de stengels en ging er toe over om de oude anjergrond te stomen, zoals dit bij rozenmoeheid gedaan werd. Toch was ook dit vaak niet afdoende, en het was dus van belang te weten te komen, wat hiervan de oorzaak was.

Een studie van de vrij uitgebreide literatuur over het stengelrot van anjers bracht gegevens aan het licht, welke de oplossing voor deze schijnbare tegenstrijdigheid opleverden.

Het blijkt nl. dat men niet steeds met dezelfde ziekte te maken heeft, wanneer men de anjers ziet verdorren.

De eerste onderzoekingen over stengelziekten van de anjers dateren van reeds bijna een halve eeuw geleden. Te beginnen met Sturgis (1897) tot aan White (1929) ging het in hoofdzaak over aantasting door Fusariën. De geschiedenis van de reeks onderzoekingen over stengelrot van anjers is een merkwaardig voorbeeld van de belangrijke invloed, welke een klein verschil in de methode van onderzoek, kan hebben.

Het onderzoek van Wickens (1935) toonde nl. aan, dat de ernstigste kwaal van de Amerikaanse anjers niet Fusarium-voetziekte was, doch een vaatziekte veroorzaakt door *Verticillium cinerescens* Wr, tegenwoordig bekend als *Phialophora cinerescens* (Wr) v. Beyma. Het gaat hier om een klein verschil in isolatiemethode. Legt men stukjes van aangetaste stengels na grondige ontsmetting steriel uit, dan verschijnen er vrijwel steeds Fusariën in de Petrischaal. Snijdt men echter eerst de bast geheel weg, zodat men het bruinverkleurde houtgedeelte overhoudt, dan komt er uit hetzelfde materiaal absoluut geen *Fusarium*, maar voor 100 % *Phialophora*.

Het is niet aannemelijk, dat deze specifieke anjerziekte pas in de laatste tien jaar zou zijn opgetreden. Het is dan ook een dramatisch geval, dat White in 1929, na geslaagde infectieproeven met *Fusarium culmorum*, juist was gestuit op een ziekteverschijnsel, dat via de wortels ontstond en niet door *Fusarium*-aantasting verklaard kon worden, toen hij wegens gebrek aan subsidie zijn onderzoek moest laten rusten. Toen hij de kwestie zes jaar later weer kon aanvatten wegens nieuwe klachten uit de praktijk, had Wickens juist de ware oorzaak ontdekt. Hieruit blijkt al weer, hoe schadelijk het is om onderzoekingen stop te zetten, wanneer de praktijk tijdelijk geen belang in de kwestie stelt.

Bij onze anjers dient men dus twee ziekte-typen scherp te onderscheiden, nl.: *voet*ziekte en *vaat*ziekte.

VOETZIEKTEN

Wanneer er belangrijke cultuurfouten gemaakt zijn, kunnen bepaalde schimmels, welke anders een beperkte betekenis hebben en b.v. op lekplaatsen in de kas het wegvallen van planten veroorzaken, ernstige schade gaan geven. Het zijn vooral verschillende *Fusariumsoorten*, welke algemeen verbreid voorkomen en dus niet specifiek voor anjers zijn, die dan de stengelvoet aantasten. Het gewas

gaat daardoor verdorren. In Aalsmeer werden geïsoleerd: *Fusarium avenaceum* (Fr) Sacc., *F. equiseti* (Cda) Sacc., *F. graminearum* Schw. en *F. oxysporum* Schl. De planten kunnen dus door allerlei Fusariën tot afsterving gebracht worden, echter werd het grootste aantal malen *F. avenaceum* aangetroffen. Merkwaardig is, dat in Engeland vooral *F. culmorum* (W. Sm.) Sacc. gevonden werd, welke door mij nooit is geïsoleerd. *F. herbarum* Cda wordt door Wickens ook opgegeven als belangrijk voor anjers. De verschillende *Fusarium*soorten komen vaak in combinatie met elkaar in de aangetaste stengelvoet voor. De *Fusarium*-voetziekte wordt dus veroorzaakt door een complex van Fusariën, met bij ons *F. avenaceum* als hoofdverwekker.

Daarnaast kan voetziekte ook veroorzaakt worden door andere schimmels, waarvan White in een „Survey" (1936) o.a. vermeldt *Botrytis*, *Rhizoctonia* en *Sclerotinia*.

Sclerotinia sclerotiorum werd door ons één maal op een pas gepote anjer gevonden, afkomstig uit een gewas, dat wegens slechte bodemomstandigheden niet goed aangeslagen was.

Een zeer ernstig geval heeft zich één maal voorgedaan te Aalsmeer, waarbij een hele kas met anjers in de zomer te gronde ging aan aantasting door *Alternaria dianthi* St. & H. Dit is een schimmel, welke over het algemeen meer als veroorzaker van bladvlekkenziekte bekend staat, maar die onder omstandigheden ook de stengels aantast. Vermoedelijk was er na de strenge winter van 1939/1940 in het voorjaar te weinig gestookt, omdat er al zovéél kolen verbruikt waren! Overmatige vochtigheid zal toen de aantasting van de stengelvoet en ook van hogere stengeldelen bij de eerste vertakkingen, in de hand gewerkt hebben. Een volgend jaar, toen er meer op het droog stoken gelet was, heeft de ziekte zich op hetzelfde bedrijf niet meer voorgedaan. In Engeland beschreef Corbett (1928) een dergelijk geval. De kwaal lijkt gevaarlijker dan de Fusarium-aantasting. Men kan echter de ziekte voorkomen door vermijding van cultuur-fouten. De *Alternaria* kan in een niet verwonde anjerplant binnen dringen, zoals ons bleek bij een bespuiting van een jonge plant, welke onder een glazen klok gehouden werd, met een sporensuspensie van de schimmel. De Fusariën komen voornamelijk door wonden binnen.

Volgens White zouden de voetziekten minder belangrijk geworden zijn sinds de methode van spintbestrijding gewijzigd is. Vroeger was men hiervoor aangewezen op bespuiting met koud water; tegenwoordig verdampt men 's zomers naphtaline. Men kan dus vochtovermaat gemakkelijker vermijden.

VAATZIEKTEN

Een aantasting van de vaatbundels van de stengel door *Fusarium dianthi* Prill. et Delacr. is van ouds bekend bij de anjers in Zuid-Frankrijk (Delacroix, 1900). Deze schimmel werd door mij nooit gevonden, terwijl zij in Engeland slechts op één bedrijf werd waargenomen (Wickens, 1935). Het is blijkbaar een ziekte uit warmere streken, want de optimale temperatuur voor de groei van de schimmel is 29 °C. Het minimum ligt bij 10°; bij 35° is nog flinke groei waar te nemen, volgens Wickens. Deze geeft voor *Fusarium culmorum* en *herbarum* een temperatuur-optimum van 25 °C, dus aanmerkelijk lager. De door *F. dianthi* veroorzaakte vaatziekte heeft voor ons dus geen belang, zodat ik er niet verder over zal uitweiden.

De vaatziekte, welke daarentegen voor ons van zeer grote betekenis is, wordt

veroorzaakt door de reeds genoemde *Phialophora cinerescens*. Wat haar temperatuur-eisen aangaat, past deze schimmel veel meer in ons koele klimaat. Het optimum ligt bij 20 °C, terwijl, volgens WICKENS, de groei bij 1,5 °C nog niet geheel stilstaat. Bij 35 °C is echter geen groei meer mogelijk. De uitbreiding van de aantasting in de vaatbundels kan dus 's zomers zowel als 's winters plaats hebben.

Het is een ziekte, die zich niet laat onderdrukken door gewone cultuurmaatregelen. Onafhankelijk van water geven, stoken en luchten, breidt de kwaal zich langzaam uit tot zieke plekken in de bedden ontstaan. De ziekte verspreidt zich door de grond, waarbij de schimmel in staat is de gezonde wortels binnen te dringen zonder dat daarvoor verwonding nodig is. Van uit de wortels groeit de *Phialophora* door de vaatbundels in de stengel omhoog, waarbij deze tot in de hoogste vertakkingen aangetast kan worden. De schimmel groeit zeer langzaam omhoog, ongeveer 0,5 cm per dag, en waar de ziekte tot 1 m en meer in de stengels kan doordringen, is het begrijpelijk, dat het zeer lang duurt voor een plant geheel doorwoekerd is. De incubatietijd is dan ook zeer lang. Het duurt ongeveer 3 à 4 maanden na de aantasting der wortels voor een anjerplant verdorren gaat.

Daar de schimmel geheel binnen in de plant groeit, heeft hier een bijzondere zorg voor de stengelvoet geen betekenis. De infectie heeft immers *niet* via de voet plaats en het is daarom niet van belang of deze nat of droog, onder of boven de grond gehouden wordt. Bovendien is de schimmel niet te bereiken met bestrijdingsmiddelen, zoals men in de praktijk wel eens geprobeerd heeft, in de veronderstelling, dat *Fusarium*-aantasting van de stengelvoet de oorzaak was. Fusariën zijn wel vaak secundair op de *Phialophora*-zieke planten aanwezig, en dat is de reden, waarom men lange tijd over Fusarium is blijven spreken, terwijl *Phialophora* de schuldige was. Hierdoor liepen de bestrijdingsmaatregelen ook op niets uit.

Het herkennen van de ziekte is eigenlijk aan de verkleuring en verdorring van de planten niet mogelijk, omdat dit beeld ook ontstaat bij de voetziekten. Een vrijwel zekere diagnose is echter mogelijk door het aansnijden van de stengel, waarbij men bruinverkleurde vaatbundels dicht onder de bast tot hoog in de zijtakken kan vinden, terwijl het binnenste van de stengel gezond van uiterlijk blijft. De zekerste weg is natuurlijk de isolatie van de schimmel, waarbij men uit kleine stukjes van het bruine vaatbundelweefsel binnenuit een ontsmette anjerstengel, voor 100 % *Phialophora* kan kweken. Deze kan in reincultuur gemakkelijk worden herkend aan het verwarde, wollige luchtmycelium, dat grijsachtig tot vaalbruin van kleur is en door de vorming van zeer talrijke kwastvormige conidiëndragers, die soms met het blote oog zichtbaar zijn als kleine, olijfzwarte puntjes. De vertakkingen van de conidiëndragers zitten dicht opeen en eindigen in eivormige conidiën, welke met elkaar een olijfzwarte massa vormen. Onder de microscoop ziet men de ééncellige sporen bij massa's.

Typisch is ook de zeer langzame groei. Een Petrischaal raakt nooit geheel volgroeid, waarschijnlijk omdat de schimmel groeibelemmerende stoffen in de agar afscheidt. VAN LUYK (1938) vond ook sterke antagonistische werking ten opzichte van *Pythium*. Zelf constateerden wij dit antagonisme ten opzichte van allerlei ingestoven schimmels (*Penicillium* spec., *Cladosporium*, e.a.) in verontreinigde Petrischalen, waarbij in een kring rond de *Phialophora*-kolonies de agar geheel onbegroeid bleef.

Toch groeit deze *Phialophora* tot zeer hoog in de anjerstengels. Bovendien heeft zij de onaangename eigenschap reeds aanwezig te kunnen zijn in gedeelten, waar nog geen bruine vaatverkleuring waar te nemen is. Op die manier kunnen

ook de jonge scheuten, welke voor stek gebruikt worden, reeds aangetast zijn, zonder dat men daarvan op doorsnee iets bespeurt. Dat is een groot gevaar bij het stek-winnen! Vooral ook omdat uiterlijk nog gezonde planten, welke pas na verloop van enige tijd verdorren zullen, nog oogenschijnlijk goed stek leveren, dat later blijkt reeds besmet te zijn geweest. Het verraderlijke is, dat deze besmette stekken zich aanvankelijk nog goed ontwikkelen en zelfs bij het uitpoten nog niet als ziek herkend kunnen worden. Het wegvallen van de planten geschiedt pas vele maanden later.

Het spreekt vanzelf, dat een goed kweker geen stek van zieke planten neemt, maar hier doet zich het geval voor, dat gezond uitziende exemplaren in de omgeving van de zieke reeds aangetast kunnen zijn.

De ziekte lijkt vooral in de warme zomermaanden op te treden. Dit is echter slechts schijn, omdat dan door de sterkere verdamping de reeds aangetaste planten snel tot verwelking gebracht worden. De uitbreiding van de ziekte door de grond heeft zowel 's zomers als 's winters plaats.

Phialophora cinerescens is een specifieke anjerschimmel, welke niet in grond voorkomt, waarin nog nooit anjers geteeld zijn. Dit in tegenstelling met de voetziekte verwekkende Fusariën, welke in allerlei gronden voorkomen. Poot men gezonde planten in nieuwe grond, dan is deze vaatziekte dus niet te verwachten. Komen er echter enkele besmetten onder de stekplanten voor, dan is dit het begin van de ellende, welke zich aanvankelijk nog niet zo ernstig laat aanzien. Men vindt in de eerste zomer enkele wegvallers en later hier en daar een zieke plek. Op die manier wordt echter de grond geleidelijk aan besmet en teelt men een tweede maal anjers in dezelfde kas, dan is ernstige uitval het gevolg. Bij het gebruik van sterk besmet stekmateriaal vindt men in het eerste jaar overal in de kas verspreid, aangetaste planten, een beeld, dat heel goed te onderscheiden is van besmetting van uit de grond, waarbij de ziekte pleksgewijze optreedt.

Heeft men de *Phialophora* eenmaal in zijn cultuur, dan is de grond ongeschikt voor een volgend anjergewas. Het eenvoudigste is dan wisselbouw toe te passen, daar er geen andere gewassen bekend zijn, welke door deze *Phialophora* worden aangetast. Rozen en tomaten ontwikkelen zich normaal in de besmette grond, hetgeen ons bovendien bleek bij potproeven met zieke kasgrond. De tijd, gedurende welke de schimmel in leven blijft in een bodem, waarop geen anjers meer geteeld worden, is nog niet nauwkeurig bekend. Waarschijnlijk is deze niet zo heel lang. Het gelukte nl. niet om anjers (var. *Maytime*) ziek te krijgen in potten met grond, waarop na een zwaar ziek anjergewas, twee jaren tomaten geteeld waren.

Een andere weg om de zieke grond weer bruikbaar te maken, is deze te ontsmetten, hetzij door stomen, hetzij met formaline. Dit zal zeer zorgvuldig moeten geschieden wegens de kans op herbesmetting. Bij het stomen zal men dus geen hoekje mogen overslaan en zal de hitte voldoende diep moeten doordringen.

Om na te gaan hoe hoog de grond verhit moet worden om van *Phialophora* bevrijd te raken, werd een proef genomen op de Proeftuin te Aalsmeer. Uit een *Phialophorazieke* kas werd een hoeveelheid grond gehaald en verdeeld over 9 groepen van 8 potten, nadat de volgende behandelingen waren toegepast:

1. 1½ uur in stoompan verhit tot ± 70 °C.
2. 2½ uur in stoompan verhit tot ± 85 °C.
3. 3½ uur in stoompan verhit tot ± 95 °C.
4. contrôle.

5. 3 uur droog verhit in kleine thermostaat tot ± 70 °C.
6. 3 uur droog verhit in kleine thermostaat tot ± 80 °C.
7. 3 uur droog verhit in kleine thermostaat tot ± 90 °C.
8. met formaline ontsmet (gedrenkt met 1 % oplossing, 4 liter op 8 potten).
9. contrôle.

De potten werden 4 April bepoot met gezonde planten van de variëteit „Betty Lou", welke van te voren ongeveer 4 maanden in observatie gehouden waren en waarvan geconstateerd was, dat er geen *Phialophora* in voor kwam.

De eerste maanden groeiden alle anjerplanten even goed. Begin Juli werden de eerste bloemen gesneden, waarbij de planten op zieke grond even goed bloem leverden als die op de ontsmette.

Pas half Juli, dus 3½ maand na het poten, begon de eerste contrôle-rij ziekte te vertonen: 4 van de 8 planten op de niet ontsmette grond kregen geel blad en gingen geleidelijk aan verdorren. Eind Juli waren er 5 planten ziek, terwijl nu ook de tweede contrôle-rij 4 en misschien zelfs 5 zieke planten vertoonde. Bij voorzichtig aansnijden van de bast van de stengel was de typische bruine verkleuring der vaatbundels door aantasting door *Phialophora cinerescens* waar te nemen. De behandelde partijen hadden slechts gezonde planten, hetgeen later echter veranderde doordat er één zieke optrad in de groep van 70° droog verhit en ten slotte in December ook één bij „1½ uur gestoomd". Blijkbaar was dus een verhitting tot 70° niet voldoende om de grond geheel te ontsmetten, hoewel het verschil met de onbehandelden reeds zeer groot was. De verhitting tot 80° was afdoende om deze zeer zwaar besmette grond geheel gezond te krijgen.

Twee en een halve week na het poten hadden de planten in de formalinegrond ernstige beschadigingen vertoond. Het oudste blad was geel geworden. Het poten had te snel na de formalinebehandeling plaats gehad (na 10 dagen!). Deze plantjes waren later vervangen door exemplaren van de variëteit *Bonanza*, die geen last meer hadden van de formaline. Zij bleven de gehele cultuur door vrij van *Phialophora*-aantasting.

Hiermede was dus bewezen, dat *Phialophora*-zieke grond door ontsmetting te genezen is, en dat het er in de praktijk maar op aan komt of men bij het stomen overal een voldoend hoge temperatuur (80 °C) kan bereiken, hetgeen echter dikwijls een moeilijke opgave is.

Dat de ziekte in de praktijk na stomen echter nog dikwijls optrad, bleek in vele gevallen te wijten te zijn aan het gebruik van besmet stek.

Een derde methode zou zijn, verversing van de kasgrond. Dit heeft echter het bezwaar, dat er dan toch steeds resten van de oude grond in de kas achter blijven, hetgeen vooral het geval is wanneer men alleen de bovengrond weggraaft en door nieuwe vervangt. Dat geeft slechts een schijnsucces, want na verloop van tijd heeft er weer besmetting plaats van uit de ondergrond. In dergelijke gevallen is dit duidelijk te zien aan het weer verschijnen van zieke planten op de plaatsen waar het vorige gewas zieke plekken had vertoond. De beste maar ook tevens de kostbaarste maatregel zou zijn het stomen van de ondergrond, het vernieuwen van de bovengrond en het ontsmetten van het houtwerk, enz. met formaline.

Al deze maatregelen zijn echter te vergeefs, wanneer het pootgoed niet gezond is. En daar men aan de stekken niet steeds kan zien of ze gezond of ziek zijn, is de enige weg alleen stek te winnen uit kassen, welke vrij van de ziekte zijn. Dat is wel een zware eis, maar men kan niet kieskeurig genoeg zijn op het plantmateriaal en het is verkeerde zuinigheid wanneer men het niet zo nauw neemt.

Men verspreidt dus zelf met de jonge planten de kwaal van de eene kas naar de andere of naar andere bedrijven. Wil men zijn cultuur gezond houden dan is een strenge contrôle op het pootgoed zeer noodzakelijk.

De mate waarin stek van zieke planten besmet kan zijn, blijkt wel uit de volgende proef. Wij namen op 31 Augustus bij een kweker uit een *Phialophora*zieke kas, stek van planten (var. *Spectrum*), welke vlak rondom de zieke plekken stonden. Gezorgd werd, dat het stek inderdaad afkomstig was van reeds besmette planten. Een steekproefje toonde aan, dat er werkelijk *Phialophora cinerescens* uit te kweken was.

Een deel van het stek werd één nacht in Superol-oplossingen van verschillende sterkte gezet. Dit verhinderde echter niet het veelvuldig wegvallen op het stekbed van het zeer slechte stek. Het bewortelingspercentage was laag. Bij de niet gewortelden waren nog enkele stekken met enigszins verkleurde vaatbundels, waaruit echter niet anders dan *Botrytis* meer gekweekt kon worden. Half December, dus na 3½ maand, bleken er nog twee van de opgepotte plantjes weg te vallen. Op 1 Februari werden de meeste plantjes aangesneden. Slechts bij één kon de typische houtverkleuring geconstateerd worden en bij isolatie bleek hieruit dan ook uitsluitend *Phialophora* te groeien. 23 Februai werd de rest der planten opgeruimd, waarbij nog één exemplaar *Phialophora*-verschijnselen vertoonde. Van de 75 opgepotte stekken bleken er na 5 à 6 maanden dus 2 duidelijk aangetast te zijn, d.i. 2,7 %. Zo ziet men, dat een half jaar na het stekken nòg een klein percentage planten latent ziek kan zijn en dus het normale tijdsverloop vóór het uitpoten te kort is om de besmette exemplaren er uit te selecteren. Een langer voortkweken in potten zou daarvoor nodig zijn.

Er is geen anjervariëteit bekend, welke resistent is tegen *Ph. cinerescens*. Aantastingen werden door mij nauwkeurig vastgesteld door isolatie van de schimmel bij de volgende variëteiten:

Barbara Farr	Eleanor	Peter Fisher
Betty Lou	Ivory	Puritan
Bonanza	King Cardinal	Salmon Spectrum
Charming	Laddie	Sprectum
Fairy Queen	Maytime	Spectrum Suprême
Gladys	Orchid Beauty	White My Love

Van de variëteit Puritan werd door een kweker gezegd, dat deze niet vatbaar zou zijn voor de ziekte. Een infectieproef toonde echter het tegendeel aan. Een 40-tal bewortelde stekken werd opgepot in grond, welke voor de helft gestoomd was. Van de gestoomde en niet gestoomde grond werd de helft besmet met een vloeistofcultuur van *Ph. cinerescens*. Na 4 maanden, in Juni, werden de planten nagezien en de stengels opengesneden. De besmette groepen vertoonden duidelijk de bruine verkleuring in de vaten van de stengel en afsterving van het blad. De aantasting was als volgt over de groepjes verdeeld:

I. kunstmatig besmette grond	90 %	*Phialophora*-ziek.
II. gestoomde en daarna besmette grond	100 %	„
III. contrôle, onbehandelde grond	0 %	„
IV. contrôle, gestoomde grond	0 %	„

De variëteit Puritan is dus zeer gemakkelijk kunstmatig ziek te maken door besmetting van uit de grond, zodat men er niet op kan vertrouwen, dat deze geschikt zou zijn voor cultuur op besmette grond.

Een volgend jaar werd kunstmatige besmetting van de grond uitgevoerd bij beworteld stek met een reeks van 9 variëteiten, om daarvan de gevoeligheid na te gaan. Gebruikt werd een 1½ jaar oude isolatie, welke blijkbaar niet krachtig werkzaam meer was. Toch was reeds na 2½ maand, begin Mei, een zieke plant te vinden bij Charming en Orchid Beauty. Het meest aangetast bleek later in Juni/Juli: Charming, dan volgden Eleanor en Orchid Beauty, terwijl King Cardinal, Peter Fisher en Bonanza slechts één enkele maal ziek werden. Nog niet ziek waren eind Juli: Garnet Beauty, Vivian en Puritan.

Er zijn dus wel verschillen in vatbaarheid tussen de diverse anjervariëteiten. In de praktijk is de variëteit Maytime berucht om haar grote vatbaarheid.

Samenvattend kunnen we dus zeggen, dat als belangrijkste oorzaak van sterfte in de Amerikaanse Anjers genoemd moet worden de *vaat*ziekte veroorzaakt door *Phialophora cinerescens*, terwijl men ten onrechte steeds over *Fusarium*-aantasting sprak. De bestrijding moet dan ook op geheel andere wijze worden aangepakt of liever gezegd, men moet de ziekte voorkomen door te telen in *Phialophora*-vrije grond en tevens te zorgen voor onbesmet stek.

LITERATUUR

Beyma thoe Kingma, F. H. van (1939): Ueber einige Formen von Verticillium Dahliae Klebahn. Antonie v. Leeuwenhoek 6, 1939/1940, zie p. 37.

Beyma thoe Kingma, F. H. van (1943): Beschreibung der im Centraalbureau voor Schimmelcultures vorhandenen Arten der Gattungen Phialophora Thaxter, u.s.w. Antonie v. Leeuwenhoek 9, zie p. 59.

Bijl, P. A. van der (1915): „Wilt" or Crown Rot" Disease of Carnations caused by Fusarium sp. Ann. Appl. Biol. 2, p. 267–291.

Corbett, W. (1928): A new „Wilt" Disease of the Carnation. 13th Ann. Report Cheshunt (1927), p. 42–43.

Delacroix, G. (1900): La Maladie des Oeillets d'Antibes. Ann. Nat. Agron. XVI, p. 161–201.

Dowson, W. J. (1929): On the Stemrot or Wilt Disease of Carnations. Ann. Appl. Biol. 16: 2, p. 261–280.

Fron, G. (1936): La Maladie de Fusariose des Oeillets. Revue de Pathologie Végétale et d'Entologie agricole, T. XXIII, fasc. 2.

Luyk, A. van (1938): Antagonism between various micro organisms and different species of the genus Pythium, parasitizing upon grasses and lucerne. Meded. van het Phytopathologisch Lab. W. C. Scholten, Deel XIV, zie p. 67.

Müller-Thurgau, H. und Osterwalder, A. (1924): Landw. Jahrb. Schweiz. 38, p. 573–581.

Peltier, G. L. (1919): Carnation Stem Rot and its Control. Univ. Illinois Bull., p. 223.

Roodenburg, J. W. M. (1942): De stengelziekten van Amerikaansche anjers. Meded. Insp. v. d. Tuinbouw en het Tuinbouwonderwijs, Febr., p. 42–44.

Small, W. (1923): On the Occurrence of a Species of Fusarium in Uganda. Kew Bull., p. 269–291.

Stewart, F. C. (1898–1899): Stem Rot Diseases of Carnations. Exp. Sta. Records, Vol. X.

Sturgis, W. C. (1897): Preliminary Investigation on a Disease of Carnations. Ann. Rep. Conn. Agric. Exp. Sta. III, p. 175–181.

WHITE, H. L. (1929): The Wilt Disease of the Carnation. Journ. Pom. & Hort. Sci. VII, p. 302–322 (zie ook 14th Ann. Rep. Exp. & Res. Sta. Cheshunt 1928, p. 62–75).
——— (1936): A Survey of Carnation „Stem Rot" Diseases. 21th Ann. Report Cheshunt (1935), p. 43–46.
——— (1936): Verticillium Wilt of the Carnation. 21th Ann. Report Cheshunt (1935), p. 46–50.
——— (1937): Verticillium Wilt of the Carnation. 22th Ann. Report Cheshunt (1936), p. 48–52.
——— (1936): On Verticillium Wilt of the Perpetual Flowering Carnation. Journ. Pom. & Hort. Sci., XVI, p. 216–226.
——— (1938): Stem Rot and Wilt of the Perpetual Flowering Carnation. Sci. Hort. Vol. VI, p. 86–92 (zie ook W. Brown, p. 93–96).
WICKENS, G. M. (1935): Stem Rot and Dieback of Carnations. Ann. Appl. Biol. 22, p. 630–683.
WIGHT, C. T. (1912): A Stem Rot Disease of Carnations due to a Species of Fusarium. Pomona Coll. J. Econ. Bot. II, p. 315–336.
WOLLENWEBER, H. W.: (1929) Die Wirtelpilz-Welkekrankheit (Verticilliose) von Ulme, Ahorn, und Linde, u.s.w. Arb. biol. Reichsanst. f. Land- und Forstwirtschaft XVII, p. 273–299.

Aalsmeer, Juni 1944

USTILAGO TRAGOPOGONIS SCHROET. EN U. SCORZONERAE (ALB. ET SCHW.) SCHROETER

DOOR

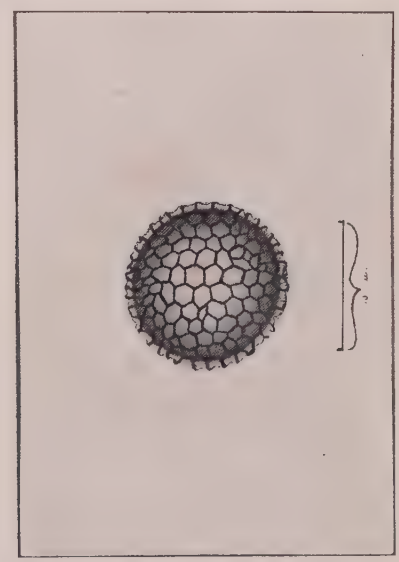
DR L. C. DOYER

Begin Mei 1944 vonden IR ELTIEN KRIJTHE en IR NEELTJE KRIJTHE in de uiterwaarden aan den Rijn bij Wolfswaard te Wageningen een plant van *Tragopogon pratensis* L., die door „brand" was aangetast. Ofschoon deze ziekte van boksbaard niet zeldzaam is en zij misschien aan vele lezers van dit Tijdschrift bekend zal zijn, scheen het toch wel de moeite waard op deze vondst hier de aandacht te vestigen, te meer daar het IR K. LEENDERTZ gelukte, het ziektebeeld in eenige mooie, duidelijke foto's vast te leggen.

Zooals aan het habitusbeeld van de zieke plant (foto 1) te zien is, krijgen de bloemhoofdjes door deze aantasting een geheel ander uiterlijk dan dat van normale gezonde planten. De door *Ustilago tragopogonis* SCHROET. geïnfecteerde bloemhoofdjes zijn gesloten en blijven dit ook bij voortduring, totdat zij ten slotte onregelmatig openscheuren, waardoor de brandsporen dan kunnen verstuiven. Buigt men de omwindselblaadjes van zoo'n gesloten bloemhoofdje naar buiten, dan blijken de omtrekken der voormalige lintbloempjes nog duidelijk waarneembaar te zijn, zooals dit op de tweede foto goed te zien is. De bloempjes zelf zijn echter volkomen vernield door de brandschimmel en in plaats van de normale samenstellende deelen vindt men een dichte opeenhooping van brandsporen. De sporen van deze Ustilagosoort vormen een poederachtige, zwarte tot bruinachtige massa. Bij microscopisch onderzoek blijken zij een donkerviolette kleur te hebben, waarbij nog valt op te merken, dat de naar binnen gerichte zijde wat lichter van

A. *Tragopogon pratensis* L. aangetast door *Ustilago tragopogonis* Schroet.

B. Bloemhoofdje van *Tragopogon prat.* aangetast door *U. tragopogonis.*



C. Brandspore van *U. tragopogonis.*

tint is dan de naar buiten gekeerde. Zij zijn bolvormig tot elliptisch, 13–18 μ lang en 10–16 μ breed; de wand vertoont een regelmatige, ongeveer zeshoekige, teekening. Door deze netvormige teekening doen deze brandsporen aan die van *Tilletia tritici*, de steenbrand van tarwe, denken; de mazen zijn evenwel wat kleiner. Deze brandschimmel behoort echter, blijkens de wijze van kieming der brandsporen, niet tot het geslacht *Tilletia*, doch is een Ustilagosoort. De sporen gaan, zelfs reeds in water, gemakkelijk tot kieming over. De kieming werd al in 1854 door TULASNE bestudeerd en afgebeeld. Er vormt zich eerst een kort promycelium, dat door de vorming van drie dwarswanden viercellig wordt. Onder elk der dwarswanden vormt zich zijdelings een sporidium, dat naar beneden ombuigt en zoodoende tegen het promycelium aan komt te liggen. Bij het geslacht *Tilletia* worden de sporidiën aan den top van het promycelium gevormd, zoodat het duidelijk is, dat deze brandschimmel van boksbaard geen *Tilletia-*, maar een *Ustilagosoort* is.

Bij de kieming der brandsporen wordt de haploïde, eenkernige phase ingeleid. Deze eenkernige sporidiën voeden zich saprophytisch en kunnen op kunstmatige voedingsbodems voortgekweekt worden. De sporidiën gaan gemakkelijk tot copulatie over en vormen dan het diploïde, tweekernige stadium. Hierna groeien zij tot schimmeldraden, ook wel zoekdraden genaamd, uit; het zoo ontstaande mycelium is geheel uit tweekernige cellen opgebouwd.

Gaat men bij het maken van een reincultuur van één sporidium uit, dan treedt geen copulatie op. Zooals door onderzoekingen is uitgemaakt, is *Ustilago tragopogonis* zoogenaamd bipolair sexueel. Er zijn nl. twee sporidiën van tegengesteld geslacht noodig, wil copulatie optreden. In reinculturen groeien deze gecopuleerde sporidiën uit tot zoekdraden, zoodat met het bloote oog reeds te zien is of copulatie al dan niet heeft plaats gehad.

Met het inzetten van dit diploïde, tweekernige stadium schijnt, volgens R. BAUCH en andere onderzoekers, de voedingsphysiologie der brandschimmels in het algemeen geheel te veranderen, zoodat verder voortleven dan alleen nog maar op parasitische wijze mogelijk is. Hiervoor moeten zij in een levende plant, die speciaal voor de betreffende brandschimmelaantasting vatbaar is, naar binnen dringen. Blijft de schimmel in deze phase doorgroeien op een kunstmatigen voedingsbodem, dan treden de zoekdraden weer tot het haploïde stadium terug. Slechts zelden is het bij proefnemingen gelukt in reinculturen brandsporen of daaraan herinnerende lichaampjes te zien optreden. Pas na de vorming der brandsporen in de plant heeft in ieder dezer sporen versmelting van het kernenpaar tot één enkele kern plaats, waarmede de ontwikkelingscyclus gesloten is.

Een nauw verwante *Ustilago*soort, *Ustilago scorzonerae* (ALB. et SCHW.) SCHROET., komt bij schorseneeren voor. Dit is zoowel het geval op de gekweekte schorseneer, *Scorzonera hispanica* L., als op de weidesoorten *S. humilis* L. en *S. purpurea* L. De brandsporen van deze *Ustilago*soort hebben wat geringer afmetingen en zijn 9–11 μ doorsnee. De aantasting doet overigens uiterlijk veel aan die van boksbaard denken, met dit verschil echter, dat de sporen, die in de bloemhoofdjes gevormd worden, hier spoedig verstuiven.

Het is R. BAUCH [1]) gelukt ook deze *Ustilago scorzonerae* op een kunstmatigen voedingsbodem tot kieming te brengen. Eerst scheen deze soort zich moeilijker te ontwikkelen, maar in gewone mout-agar vond BAUCH per slot hiervoor een

---

[1]) R. Bauch, Die Sexualität von *Ustilago Scorzonerae* und *Ustilago Zeae*. Phytopathologische Zeitschrift V 3, 1932.

geschikten voedingsbodem. *Ustilago scorzonerae* is eveneens bipolair sexueel, zoodat ook hier copulatie optreedt zoodra twee sporidiën van verschillend geslacht samentreffen. Door de daarop volgende ontwikkeling van zoekdraden is weer met het bloote oog te zien, of twee gelijksoortige, dan wel twee sporidiën van tegengesteld geslacht zijn samengebracht. In het eerste geval blijft de vorming van zoekdraden achterwege.

In tegenstelling met deze bipolaire *Ustilago*soorten is bij dit geslacht ook multipolaire sexualiteit bekend. Bij soorten, waarbij deze laatste voorkomt, hangt het al of niet copuleeren der sporidiën van meerdere factoren af. Zoo heeft BAUCH voor *Ustilago Zeae* (BECKM.) UNGER gevonden, dat hier zes steriliteits- en twee geslachtelijke factoren aanwezig zijn, die de copulatie bepalen.

Zoowel bij boksbaard als bij schorseneer wordt door de vernieling der bloemhoofdjes, ten gevolge der brandschimmelaantasting, de zaadvorming geheel onmogelijk gemaakt. Met betrekking tot *U. scorzonerae* is het bekend, dat het mycelium kan overwinteren in de blijvende resten van de waardplant. In hoeverre de brandsporen de infectie over kunnen brengen, indien zij verstuiven op zaden van naburige, gezonde planten, schijnt voor beide soorten nog een onuitgemaakte zaak te zijn. Dit is echter wel waarschijnlijk en zou door proefnemingen vermoedelijk wel uit te maken zijn.

ZIJN CYLINDROCARPONSOORTEN PARASITAIR VOOR CYCLAMEN PERSICUM?

DOOR

J. W. M. RODENBURG EN S. DE BOER

Een enkele keer vindt men in de litteratuur het schimmelgeslacht *Cylindrocarpon* vermeld in verband met ziekte in Cyclamen.

In het boek van GRAM en WEBER (1940): Plantesygdomme, wordt *Cylindrocarpon radicicola* genoemd in verband met aantastingen van Cyclamenknollen en wortels.

In het Verslag van de Werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst 1941 wordt meegedeeld, dat uit Cyclamenplantjes, welke verschijnselen van „van den wortel gaan" vertoonen, *Cylindrocarpon* geïsoleerd is. Infectieproeven werden er niet mee verricht.

WOLLENWEBER (1935) vindt één keer *C. radicicola* naast *Fusarium oxysporum* var. *aurantiacum* in den knol van een Cyclamen, die aan een verwelkingsziekte lijdt en waarvoor deze Fusarium parasitair is. Met *Cylindrocarpon* kon hij geen verwelking te voorschijn brengen.

Aan zieke Cyclamenplanten, welke wij in den loop van eenige jaren onder oogen kregen, namen wij verschillende symptomen waar. Allerlei deelen van Cyclamenplanten kunnen min of meer aangetast zijn: de bladen vertoonen b.v. necrotische plekjes, de bladsteelbasis is soms ingesnoerd, de knoppen kunnen verdrogen, de knollen hebben een roodbruine verkleuring of de wortels zijn bruinverkleurd.

Uit al deze zieke deelen zijn tallooze malen isolaties gemaakt, waarbij zeer vaak *Cylindrocarpon* te voorschijn is gekomen, echter nooit voor 100 %. Bij determinatie, verricht op het Centraalbureau voor Schimmelcultures te Baarn, blijkt *C. radicicola* WR het meest voor te komen. *C. obtusisporum* (CKE & HARKN.)

WR is ook dikwijls aanwezig, en één keer kon *C. didymum* (CKE & HARKN.) WR geconstateerd worden.

Het veelvuldig optreden van *Cylindrocarpon* deed vermoeden, dat deze schimmels misschien één of meer ziekteverschijnselen bij Cyclamen teweeg zouden kunnen brengen. Op de volgende manieren zijn daarom inoculatieproeven met deze schimmels uitgevoerd, voornamelijk bij witte Cyclamen en Perle von Zehlendorf:

1. gestoomde grond werd met *Cylindrocarpon* geënt, daarin werden Cyclamenplantjes opgepot,
2. vloeistofcultures van verschillende ouderdom van twee *Cylindrocarpon*-isolaties werden onder in den bloempot gebracht,
3. sporensuspensies werden in het hart van de plant uitgegoten, in de helft der gevallen over de litteekens van versch afgeplukte bladstelen,
4. Cyclamenknollen werden aangesneden en in de verwondingen werden stukjes agar met mycelium gebracht,
5. vlokjes mycelium werden in het hart van de plant geprikt,
6. op Cyclamenbladen werd met een nevelverstuiver een sporensuspensie verspoten,
7. op bladen, waarvan bij den bladsteel de nerven aangesneden waren, werd een stukje agar met mycelium gebracht,
8. de vloeistofcultuur van verschillende schimmels werd door electrisch verhitte grond gemengd, daarin werden plantjes opgepot en bij twee verschillende temperaturen voortgekweekt,
9. sporensuspensies van verschillende schimmels werden bovenin en dwars door jonge Cyclamenknolletjes met een injectiespuitje geïnjiceerd.

Deze proeven werden in verschillende jaargetijden uitgevoerd. In geval 6 en 8 werden 10 of meer stammen van verschillende herkomst voor één proef gebruikt. Steeds werden series contrôleplanten op dezelfde wijze, maar zonder schimmel. behandeld.

Tegen onze verwachting in trad echter *in geen enkel geval* een ziekteverschijnsel tengevolge van kunstmatige inoculatie op!

Alle proefplanten werden eenige maanden aangehouden. Na afloop werden zij in hun geheel nagekeken en de knollen werden opengesneden. Uit verdachte plantendeelen werden isolaties gemaakt. Slechts een enkele maal werd *Cylindrocarpon* geïsoleerd, uit planten zonder ziekteverschijnselen. De schimmel is dus niet van beteekenis geweest voor de plant.

Uit deze proefnemingen mag geconcludeerd worden, dat de onderzochte *Cylindrocarpon*soorten voor de Cyclamen niet parasitair zijn; waarschijnlijk komen deze soorten secundair in de planten voor.

LITERATUUR

GRAM, E. & A. WEBER: Plantensygdomme, Emil Wiener Bogforlag, København, 1940, p. 390.

Verslag Werkzaamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst, 1941, p. 34.

WOLLENWEBER, H. W.: Alpenveilchen (Zyklamen) Welke, eine Krankheit pilzlicher Natur, Nachrichtenblatt für den Deutschen Pflanzenschutzdienst, Jahrgang 15, Nr 4, April 1935.

UITTREKSEL UIT DE LITERATUUR

DR N. LUBSEN: *Penicilline.* Ned. Tijdschr. v. Geneesk. Noodnummer Sept./Oct. 1944.

Samenvatting: Penicilline is een antibioticum, dat gewonnen wordt uit een cultuurvloeistof van *Penicillium notatum.* Deze vloeistof is voor bepaalde micro-organismen 500–800 maal zo antiseptisch als carbol.

De sterkte van een oplossing kan nog slechts volgens biologische methoden bepaald worden. De sterkte wordt uitgedrukt in Oxford-eenheden. Eén Oxford-eenheid is de hoeveelheid Penicilline, die, opgelost in 50 cm^3 bouillon, de groei van een bepaalde stam van *Staphylococcus aureus* nog juist volkomen verhindert.

Penicilline is een zwak zuur. Door verdunde zuren en alcaliën, primaire alcoholen, Zn, Cd, Cu, Hg, oxydantia en verwarming wordt het geïnactiveerd. De zouten ervan zijn in kristallijne vorm goed duurzaam, in de koude tenminste verscheidene maanden.

De werking van het Penicilline wordt niet door bloed, serum, p. aminobenzoëzuur of etter geschaad. Wel verliest Penicilline zijn werking door enzymen van in de lucht voorkomende micro-organismen.

In Engeland en Amerika zijn zeer veel dergelijke antibiotica afgezonderd uit bodembacteriën, schimmels en saprophytische Actinomyceten, waarvan de meeste echter zeer giftig zijn.

Penicilline is uitermate weinig toxisch.

Opmerkingen: Belangrijk is de mededeling op welke manier het Penicilline ontdekt werd: FLEMING liet een cultuur van *Staphylococcus aureus* onafgedekt staan, waardoor deze verontreinigd werd door *Penicillium notatum,* die een stof afscheidde, welke de *Staphylococcus*kolonies oploste.

Van belang is verder de mededeling, dat de antibiotica voornamelijk uit bodembacteriën, schimmels en saprophytische Actinomyceten afgezonderd worden. Willen we dus naar een antibioticum gaan zoeken, dat voor een bepaald micro-organisme vernietigend is, dan zullen we de volgende weg kunnen bewandelen: We kweken op een vaste voedingsbodem een aantal kolonies van het bewuste organisme. Tussen deze kolonies strooien we enige kruimels grond uit of brengen op een andere manier allerlei verontreinigingen aan. Blijken nu bij deze verontreinigingen organismen te zijn, die ons oorspronkelijk organisme oplossen, dan is het een eerste taak de bewuste verontreiniging te isoleren en in reine cultures verdere proeven te nemen. Vallen ook deze positief uit, dan moet getracht worden het stofwisselingsproduct, dat de oplossende werking uitoefent, zo zuiver mogelijk af te zonderen.

Zoodra de Engelsch-Amerikaansche literatuur over dit voor de moderne mycologie zoo belangrijke onderwerp beschikbaar komt, hopen we er nader op terug te komen.

J. SNEEP